

Grundlagen für die Beurteilung des Kollagenvolumens von Rohwürsten

Walfried Eberlein

1961

Aus dem Institut für Nahrungsmittelkunde
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Professor Dr. L. Kotter

GRUNDLAGEN FÜR DIE BEURTEILUNG DES KOLLAGENVOLUMENS
VON ROHWÜRSTEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Walfried Eberlein
aus
Lehrberg bei Ansbach

1961

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. A. Meyn
Referent: Professor Dr. L. Kotter

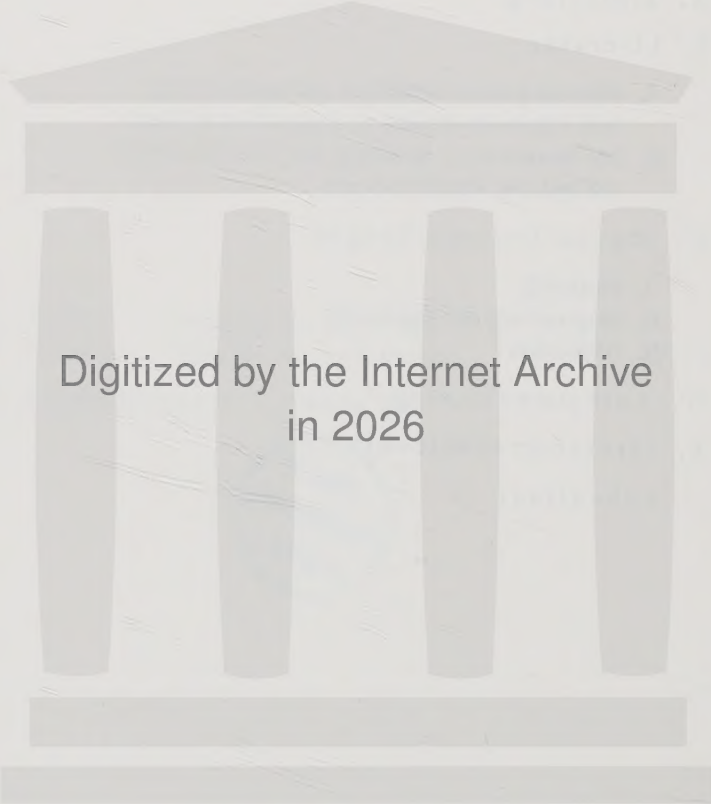
Tag der Promotion: 24. Februar 1961



UNI-DRUCK, München 13, Amalienstraße 85

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Einleitung	1
B. Literatur	2
I. Mikroskopische Methoden zur Bestimmung von Volumenanteilen in gemischten Körpern	2
II. Die quantitative Erfassung von Gewebselemen- ten bei der Wursthistologie	6
C. Eigene Untersuchungen	10
I. Methodik	10
II. Besprechung der Ergebnisse	16
III. Diskussion	17
D. Zusammenfassung	20
E. Literaturverzeichnis	21
Lebenslauf	28



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555220_0073

A. EINLEITUNG

An Hand der Azanfärbung nach Heidenhain in der Modifikation von Kottler (26) ist es möglich, in erhitzten Fleisch- und Wurstwaren Bindege-
webseiweiß und Eiweiß anderer Herkunft (insbesondere Muskeleiweiß) diffe-
renziert darzustellen und durch histometrische Auswertung deren Volumenanteile zu bestimmen, auch wenn die spezifische Struktur der verschiedenen
Gewebe völlig zerstört ist. Diese Methode hat sich bei der Qualitätskontrolle
von erhitzten Fleisch- und Wurstwaren bereits bewährt, bei rohen Fleisch- und
Wurstwaren hat sie bisher versagt. Zwar können bei rohen Erzeugnissen die
Bindegewebesubstanzen meist morphologisch erkannt und ihr Volumenanteil
ermittelt werden, die Zuverlässigkeit ist aber bei erhöhtem Zeitaufwand ge-
ringer als bei substanzspezifischer Darstellung des Eiweißes. Es war daher zu
prüfen, ob und auf welche Weise bei rohen Fleisch- und Wurstwaren auch mit
der Anilinblau-Orange-Färbung eine spezifische Anfärbung des Bindegewebs-
eiweißes erzielt werden kann. Daneben sollte die Komponentenverteilung
im Schnitt standardisiert werden, um eine konstante Zuverlässigkeit der Aus-
sage zu erreichen. Schließlich waren Beurteilungsgrundlagen für das Bindege-
webseiweißvolumen in rohen Fleisch- und Wurstwaren aufzustellen, nachdem
sich gezeigt hatte, daß die für Brühwurstqualitäten festgelegten Grenzwerte
nicht auf die Rohwurstqualitäten übertragen werden können.

B. LITERATUR

I. Mikroskopische Methoden zur Bestimmung von Volumenanteilen in gemischten Körpern

1.

Die von Kotter (24) in die Wursthistologie eingeführte Integrationsmethode wurde schon vor über hundert Jahren in der Mineralogie begründet, wo es ebenfalls galt, die Volumenanteile einzelner Komponenten in gemischten Körpern zu bestimmen.

Als erster hat Delesse (8) eine geometrische Methode abgeleitet: Bei entsprechender Verteilung der Komponenten verhalten sich auf Gesteinsschliffen die Flächenanteile der Gesteinsarten zueinander wie ihre Volumenanteile. Dieser Zusammenhang kommt in der Formel $v = f \cdot dz$ zum Ausdruck, worin v = Volumen, f = Schnittfläche der einzelnen Komponente und dz = unendlich geringer Abstand der Schnittflächen voneinander. Die Messungen waren damals jedoch noch mühsam und zeitraubend: Ein ölgetränktes Papier wurde auf den Gesteinsschliff gelegt und die einzelnen Komponenten abgezeichnet. Dann wurde das Papier auf Stanniol geklebt, die Komponenten ausgeschnitten, das Papier jeweils abgelöst und die zur selben Komponente gehörenden Stanniolblättchen zusammen gewogen. Das Verhältnis der Gewichte zueinander ist gleich dem Volumenverhältnis der Gesteinsarten. Diese Art der Relationsbestimmung ging später als Zeichen-Wäge-Verfahren in die Literatur ein.

Sollas (50) hat zur schnelleren und genaueren Erfassung der Flächenumrisse ein Zeichenprisma verwendet, während Johanssen (22) ein Zeichenokular benützt hat, mit dem ein vergrößertes Bild auf einen weißen Bogen projiziert und mit einem Polarplanimeter die Flächenanteile bestimmt worden sind.

2.

Rosival (44) hat das Integrationsverfahren wesentlich vereinfacht, indem er anstelle der Flächenmessung eine Längenmessung zur Volumenbestimmung heranzog. Dabei ging Rosival davon aus, daß die Flächenanteile durch Längensummen bestimmt werden können. Während Delesse eine "materielle" Fläche als zu messendes Körperelement heranzog, genügt nach Rosival eine "materielle" Linie (Mengenindicatrix), die wie folgt definiert wird: "Dieselbe zeigt in dem Verhältnis der Summe der einem bestimmten Mineral zufallenden Durchschnittslängen zu ihrer Gesamtlänge unmittelbar auch zugleich den ziffern-

mäßigen volumetrischen Anteil des betreffenden Minerals im Gestein an, und es ist damit die Ermittlung der Quantitätsverhältnisse von der dritten Dimension direkt auf die erste Dimension reduziert". Bei einer Korngröße von 1 mm sei zur Relationsbestimmung eine Indicatrix von mindestens 100 mm Länge notwendig, wenn der Fehler 1 % nicht überschreiten soll. Für die Messungen wurde ein Okularmikrometer empfohlen, mit dem die Längen der einzelnen Komponenten entlang von Tuschestrichen gemessen werden können, die man vorher auf das Deckglas zeichnet. Bei dieser Methode werden allerdings für die Durchmessung eines Schnittes mehrere Stunden benötigt.

Für dieses Verfahren hat Hirschwald (20, 21) ein Planimeter-Okular vorgeschlagen, das zwei aufeinander senkrecht stehende Skalen enthält. Die eine ist als Ordinate angeordnet und steht fest, während die andere sich als Abszisse verschieben läßt. An ihr liest man die Längen der einzelnen Komponenten ab.

Eine wesentliche technische Verbesserung für das Längensummierverfahren brachte das von Shand (48) entwickelte Tischmikrometer mit zwei Mikrometerschrauben, mit denen das Präparat seitlich zu verschieben ist. Damit konnten in einem Arbeitsgang 2 Komponenten ermittelt werden. Waren jedoch die Volumenanteile mehrerer Komponenten zu ermitteln, so mußten die Meßlinien öfter abgefahren werden.

Diesen Mangel beseitigte Wentworth (51) dadurch, daß er an einem Tischmikrometer fünf Meßschrauben auf einer Achse anbrachte, wovon jede einer Komponente zugeordnet werden konnte und so in einem Arbeitsgang bis zu fünf Komponenten auszumessen waren.

Schließlich hat Schäfer (45), angeregt durch Scheumann (46), ein Tischmikrometer (Integrationstisch) entwickelt, bei dem mit sechs voneinander unabhängigen Meßspindeln das Objekt unter dem Fadenkreuz verschoben werden kann, also sechs Komponenten in einem Arbeitsgang zu erfassen sind.

Mit der der jeweiligen Komponente zugeordneten Spindel wird das Objekt so lange verschoben, bis das Fadenkreuz die Grenze zur nächsten Komponente überschreitet. Der Vorschub des Objektes wird dann mit der entsprechenden Meßspindel fortgeführt. Ist die Meßlinie zu Ende, so löst man die Klemmschrauben und bringt den Tisch in seine Ausgangsstellung zurück, ohne die Meßspindeln auf Null stellen zu müssen. Dann wird das Objekt seitlich um einen bestimmten Betrag verschoben und erneut eine Linie durchgemessen.

Nach Drescher-Kaden (9) sind jedoch die Messungen mit dem Integrationstisch sehr zeitraubend, weshalb er ein Instrument entwickelt hat, bei dem

der Kreutztisch durch einen Synchronmotor über eine Welle bewegt wird. Mit der Welle sind sechs Zählwerke verbunden, von denen jedes durch Druck auf einen Knopf eingeschaltet werden kann, wobei gleichzeitig der Motor zu laufen beginnt. Dieses Gerät ist unter der Bezeichnung "Integriervorrichtung Sigma" bekannt geworden.

Schuchardt (47) fand den Integrationstisch für die Messung feiner Gewebe und Zellstrukturen zu ungenau und schlug deshalb ein Okularschrauben-Mikrometer vor, das Integrationsokular (Fa. Leitz), das eine Weiterentwicklung des Integrationstisches darstellt. Dabei wird das Fadenkreuz in Richtung der Indicatix mit ebenfalls 6 Meßspindeln über das vergrößerte Bild geführt. Die Meßlinien können dabei in sehr geringen Abständen (0,1 mm) voneinander durch das Objekt gelegt werden.

Kotter, Degenkolb und Prändl (24, 29) haben dieses Gerät auf seine Eignung für die Wurstuntersuchung geprüft, konnten damit aber keine genaueren Ergebnisse als mit dem Integrationstisch erzielen, die Handhabung erwies sich sogar als umständlicher.

Eränkő (10) bringt das Schema einer vollautomatischen Integriereinrichtung, wobei durch einen Synchronmotor das Objekt mit gleichbleibender Geschwindigkeit auf dem Objektisch bewegt wird und der durchfallende Lichtstrahl eine Fotozelle trifft. Bei starkem Lichtstrahl (ungefärbte Stellen) wird eine zweite Zelle angeregt, die den mit ihr gekoppelten Motor einschaltet, der ein zweites Zählwerk betreibt.

3.

Glagoleff (12, 13, 14) hat zur Bestimmung der Volumenanteile in gemischten Körpern einen neuen Weg eingeschlagen: Das Objekt wird mit einer Anzahl von Punkten überdeckt und diese als Treffer für die darunter liegende Komponente gewertet. Auf diesem Prinzip beruht seine "Vorrichtung für Mikroskope zum Bestimmen der relativen Mengenverhältnisse einer Schicht". Sie besteht aus einem Kreutztisch, der über eine flexible Welle mit einem Schaltgerät verbunden ist, das mit sechs Zählwerken, einer Leertaste und sechs Tasten für die Auslösevorrichtung ausgestattet ist. Das Messen mit diesem "Puschintegrator" erfolgt dadurch, daß das Objekt schrittweise unter dem Fadenkreuz vorbeigeführt wird, und zwar bewirkt das Drücken einer Zähltaste die Registrierung eines Treffers und gleichzeitig eine Weiterbewegung des Schnittes um eine gewisse Strecke. Zur Überbrückung von Leerstellen dient eine Leertaste. Die auf die Komponenten entfallenden Treffer verhalten sich zueinander wie deren Volumina.

Für Messungen nach der gleichen Methode dient der von Chayes (6) konstruierte Kreuztisch, der mittels einer Rändelschraube schrittweise (0,3 mm) verschoben werden kann. Dieser Apparat wurde "Point Counter" genannt. Die Auswertung erleichtert ein Zählwerk mit fünf Zähltafeln und einer Summenskala.

Chayes und Fairbairn (7) haben später die Zuverlässigkeit dieser Methode und des Gerätes statistisch geprüft und gefunden, daß sie dem Streckensummiervorgehen gleichwertig ist. Ein großer Vorteil ist vor allem der geringe Zeitaufwand für die Messungen.

Chalkley (5) entwickelte wahrscheinlich ohne Kenntnis der Methode nach Glagoleff eine Treffermethode für die Histologie: In die Abbildungsebene eines Okulars ragen vier Nadeln hinein und markieren die Trefferpunkte. Ein fünftes, kürzeres dient zur Scharfeinstellung. Wenn dann nur die scharf abgebildeten Komponenten gezählt werden, so können dadurch die aus der Schnittdicke resultierenden Fehler wesentlich vermindert werden.

Die Zuverlässigkeit der Chalkley'schen Methode wurde von Haug (17) bestätigt. Er empfiehlt jedoch ein netzeingeteiltes Okular mit hundert Quadraten, wodurch sich 121 Punkte im Gesichtsfeld ergeben. Der Nachteil der regelmäßig angeordneten Trefferpunkte werde durch die unregelmäßige histologische Struktur wettgemacht. Außerdem wird das Objekt wahllos verschoben.

Haug empfiehlt wie Chalkley eine starke Vergrößerung für die Messungen, um den durch die Schnittdicke bedingten Fehler durch eine geringere Tiefenschärfe weitgehend auszuschalten.

Attardi (2) hat die "Netzmethode" empfohlen, wobei das mikroskopische Bild auf eine Leinwand projiziert wird, auf der Punkte in gleichmäßiger Verteilung aufgetragen sind. Die Punkte sollen voneinander gleiche Abstände haben.

Hennig (18, 19) hat schließlich hinsichtlich der Punktzahl einen Mittelweg eingeschlagen, indem er 25 Trefferpunkte gewählt hat. Die Punkte wurden in der von Attardi angegebenen Weise angeordnet. Durch die geringere Anzahl von Punkten soll eine bessere Übersicht erreicht und einer zu raschen Ermüdung des Auges des Untersuchers vorgebeugt werden. Hennig behauptet, daß mit dieser Methode genauere Ergebnisse zu erzielen seien, als mit dem Pointcounter und mit dem Streckensummiervorgehen.

Prändl (40) hat das Streckensummierv erfahren, den Pointcounter und das Integrationsokular (Zeiss) nach Hennig miteinander verglichen und die einzelnen Verfahren diskutiert. Da ein zweckentsprechender Pointcounter nicht im Handel war, hat Prändl (40) in Zusammenarbeit mit einer feinmechanischen Werkstätte eine einfache, leicht an jedem gebräuchlichen Mikroskop anzubringende Apparatur entwickelt, die aus einem Kreutztisch besteht, der über eine flexible Welle mit Zählwerken verbunden ist. Am Objektführer ist die Rändelschraube für die seitliche Verschiebung durch ein Zahnrad ersetzt, das durch einen kleinen Bolzen gedreht wird, der über die flexible Achse mit den Zählwerkstasten gekoppelt ist. Betätigt man eine Zähltaste, um für die unterm Fadenkreuz liegende Komponente einen Treffer zu registrieren, so wird gleichzeitig weitertransportiert. Zur Überbrückung von Leerstellen ist eine Leertaste vorhanden. Ist der Schnitt durchlaufen, so wird der Objektführer in die Ausgangsstellung zurückgezogen, der Schnitt vertikal um 1 mm verstellt und erneut durchgemessen. Prändl konnte zeigen, daß für die Messungen mit dem Pointcounter bei praktisch gleicher Genauigkeit nur $\frac{1}{5}$ der Zeit benötigt wird, die das Arbeiten mit dem Integrationstisch erfordert, und nur $\frac{1}{3}$ der Zeit, die für Messungen mit dem Integrationsokular (Zeiss) nach Hennig aufzuwenden ist.

II. Die quantitative Erfassung von Gewebelementen bei der Wursthistologie

Schon 1942 hat Bodrossy (4) eine makroskopisch und mikroskopisch anwendbare quantitative Methode zur Wurstuntersuchung empfohlen, da die Schätzung zu ungenau sei. Zur makroskopischen Untersuchung wird ein netzeingeteilter Objektträger auf 20 - 30 Schnittflächen der Wurst gelegt und die von gleichen Geweben ausgefüllten Quadrate gezählt. Für die mikroskopische Untersuchung werden zwei Methoden angegeben:

1. Die Verwendung eines Zählokulars, das ein aus 100 Quadraten bestehendes Netz enthält, und
2. die Projektion des mikroskopischen Bildes auf eine Leinwand, auf der 100 Quadrate abgebildet sind. Durch Auszählen der Quadrate, die von der gleichen Komponente ausgefüllt sind, ergibt sich der Anteil in Prozenten. Auch Kotter, Degenkolb und Schmidhofer (24) haben bei Reihenuntersuchungen von Leberwurstschnitten mit Planquadraten gearbeitet.

Lorenz (37) empfahl das sogenannte Punktierv erfahren, das eine Schätzmethode darstellt. Dabei wird eine bestimmte Größe eines Gewebsteilchens mit einem Punkt bewertet; Teilchen, die 4mal so groß sind, erhalten ein Kreuz.

Lerche (34) standardisierte diese Methode dadurch, daß er für ein Gesichtsfeld 10 Punkte veranschlagte, die schätzungsweise auf die gefundenen Komponenten anteilmäßig aufgeteilt werden. Diese Methode läßt jedoch keine präzisen Aussagen zu, sondern lediglich Schätzwerte, die durch Prädikate wie "vorwiegend", "gering" und dgl. ausgedrückt werden sollen.

Als bisherige Methode zur Bestimmung der Leberanteile hat Preuß (42) folgendes Schätzverfahren bezeichnet: Die im Blickfeld zu sehenden Leberteilchen stellt man sich zusammenliegend vor und schätzt den Bruchteil der von den Leberteilchen eingenommenen Fläche in bezug auf das ganze Gesichtsfeld. Man verwendet dabei immer den gleichen Nenner, z. B. 32, damit die Brüche leicht zu addieren sind. Am Ende der Untersuchung teilt man diese Summe durch die Anzahl der Gesichtsfelder und kommt so zum mittleren geschätzten Leberanteil.

Linke (35) hat das Punktierv erfahren nach Lerche mit dem Integrations-tisch verglichen und es zur schätzungsweisen Ermittlung der Gewebszusammensetzung als gut geeignet gefunden. In letzter Zeit hat Linke (36) diese "Histotaxation" erneut an einem größeren Material geprüft und gefunden, daß auf diese Weise die Qualität von Wurstwaren ermittelt werden kann.

Das in der Mineralogie entwickelte Zeichen-Wäge-Verfahren haben Leinati und Scolari (33) in die Wursthistologie eingeführt. Dabei wird das histologische Bild des Schnittes auf Papier projiziert, nachgezeichnet, ausgeschnitten und die den einzelnen Komponenten entsprechenden Papierschnitzel ausgewogen. Das Verhältnis der je Komponente ermittelten Gewichte zueinander ist gleich dem der einzelnen Komponenten zueinander. Diese Methode ist sehr zeitraubend und hat daher bei der Untersuchung von Wurstwaren keine Anwendung gefunden.

Kotter (24, 25, 26, 27, 29) hat den Integrationstisch in die Wursthistologie eingeführt und in Zusammenarbeit mit Degenkolb und Prändl Grundlagen für die quantitative histologische Wurstuntersuchung erstellt. Gleichzeitig wurde das Integrationsokular (Fa. Leitz) auf seine Eignung für die Wursthistologie geprüft, das aber bei unbequemer Handhabung keine Vorteile hinsichtlich der Genauigkeit der Ergebnisse erbrachte. Der Integrationstisch ist mit 6 Präzisionsmeßspindeln ausgerüstet, womit in einem Arbeitsgang bis zu 6 Komponenten ausgemessen werden können. Das Objekt wird mit der Spindel bewegt, die der unter dem Fadenkreuz befindlichen Komponente zugeordnet ist. Durch die Querverstellung ist es möglich, eine beliebige Anzahl von Meßlinien durch das Objekt zu legen. Zur histometrischen Bestimmung des Bindegewebs-eiweißes müssen nur 3 Komponenten erfaßt werden, nämlich Bindegewebs-eiweiß, Eiweiß

anderer Herkunft (Muskeleiweiß) und die Leerstellen. Die Werte für Bindegewebsweiß und Muskeleiweiß sowie für die Leerstellen summieren sich auf den ihnen zugeordneten Meßspindeln, wobei jeweils für eine Komponente 2 Meßspindeln verfügbar sind und somit 50 mm je Komponente registriert werden können, ehe die Spindeln auf Null zurückgedreht werden müssen. Das Verhältnis der für Bindegewebsweiß ermittelten Strecke zu dem für Muskeleiweiß ist gleich dem Volumenverhältnis dieser Komponenten (Leerstellen bleiben bei der Berechnung unberücksichtigt). Der Zeitaufwand für diese Messungen ist jedoch erheblich, weshalb dieses Verfahren nur für forensisch beachtliche Fälle empfohlen wurde (24).

Preuß (42) hat für die Bestimmung von Leber in Modellwürsten ebenfalls das Integrationsokular (Leitz) herangezogen und will damit den Lebergehalt meist bis auf wenige Zehntelprozent genau ermittelt haben.

Kotter und Prändl (29) gaben für die Auswertung eines Schnittes mit dem Integrationstisch einen Zeitaufwand von 1 bis 1 1/2 Stunden an. Um den Zeitaufwand möglichst einzuschränken, sollten von 10 Schnitten nur 3 zur Messung ausgewählt werden, die makroskopisch weder hinsichtlich der einen noch der anderen Farbkomponente von der Mehrzahl der Schnitte abweichen.

Die histometrische Erfassung des Bindegewebsweißes war besonders durch die von Kotter (24) modifizierte Heidenhain'sche Azan-Färbung erleichtert worden, die als eine histochemische Reaktion im weiteren Sinne aufgefaßt werden kann. Dabei wird Bindegewebsweiß blau und das übrige Eiweiß gelb dargestellt. Auf eine Kernfärbung wurde verzichtet. Damit braucht bei den histometrischen Messungen lediglich zwischen einer gelben und einer blauen Komponente unterschieden zu werden (siehe auch Kersch1 (23)).

Kotter, Prändl und Gervasini (30) haben an Modellwürsten die histometrische Ermittlung des Bindegewebes der Oxyprolin- und der Leimstickstoffmethode gegenübergestellt. Dabei hat sich gezeigt, daß das Bindegewebsweiß histometrisch ebenso gut zu erfassen ist wie mit der Oxyprolinmethode, während sich die Leimstickstoffmethode als wesentlich unzuverlässiger erwies. Die histometrische Methode hat den Vorteil, daß die Bindegewebesteile auch morphologisch erfaßt werden können und die Schnitte als Beweismaterial erhalten bleiben.

Die Eignung des Integrationstisches für Wurst und Hackfleisch haben Lerche (34), Gervasini (11), Kelch und Gerigk (32), Linke (35) und Sinell (49) bestätigt.

Da bei der Lebensmittelüberwachung Methoden erforderlich sind, die bei ausreichender Zuverlässigkeit einen möglichst geringen Zeitaufwand erfordern, hat Prändl (40) den Integrationstisch (Fa. Leitz), das Integrationsokular nach Hennig (Fa. Zeiss) und den Pointcounter nach Glagoleff (von Prändl (40) in Zusammenarbeit mit Fritzsche in einfacher Form neu entwickelt) auf Zuverlässigkeit und Zeitaufwand für die histometrische Bestimmung des Bindegewebsweiß-Volumenanteiles geprüft. Die Untersuchungen haben gezeigt, daß mit dem Pointcounter bei einem Punktabstand von 1 mm die Ergebnisse praktisch ebenso zuverlässig sind wie diejenigen, die mit dem Integrationstisch (Linienabstand 1 mm) und dem Integrationsokular (Gesichtsfeldabstände 3 mm) erhalten werden. Der Zeitaufwand, den die Messungen mit dem Pointcounter erfordern, beträgt aber nur $\frac{1}{5}$ der Zeit, die für die Messungen mit dem Integrationstisch nötig ist, und nur $\frac{1}{3}$ der Zeit, die Messungen mit dem Integrationsokular erfordern.

Kelch und Gerigk (31) haben das Integrationsokular (Fa. Zeiss) ebenfalls auf seine Brauchbarkeit in der Wursthistologie an Rohwürsten geprüft.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. Methodik

a) Bei Rohwürsten hat bisher die Heidenhain'sche Azanfärbung in der Modifikation nach Kottter versagt. Prändl (40) hat daher vorgeschlagen, Rohwurstproben zuerst mit verdünnter Säure zu behandeln oder in Wasser zu erhitzen, um die kollagenen Substanzen für Anilinblau genügend diffusibel zu machen. Dabei ist jedoch nicht zu verhindern, daß ein Teil des Kollagens unkontrolliert in Lösung geht (siehe auch Beller (3)). Es wurde daher die von Prändl vorgeschlagene trockene Erhitzung in feuchter Kammer erprobt. Gleichzeitig sollte die schonende Vorzerkleinerung des Untersuchungsgutes auf dem Gefriermikrotom zur gleichmäßigen Durchmischung überprüft werden, nachdem sich andere Homogenisierungsverfahren nicht bewährt hatten.

b) Von jeder Wurstprobe (120-150 g) wird die Hülle entfernt und an drei verschiedenen Stellen der Proben je ein Blockchen von ca. 2 cm Seitenlänge und 1/2 cm Dicke entnommen. Die übrige Probe wird zweimal durch den Wolf gedreht (Scheibe 4 mm). Die im Schneidsatz zurückgebliebenen Teile werden der Gesamtmasse wieder zugemischt, um eine Verringerung einer der Komponenten zu verhindern.

Die gewolfte Masse wird in einen Kolben gefüllt und durch Schütteln mit Äther entfettet. Dabei ist darauf zu achten, daß beim Abgießen des Äthers oben schwimmende Teilchen nicht verloren gehen. Der Äther wird drei- bis fünfmal gewechselt, bis sich das Wurstgut schließlich nicht mehr fettig anfühlt (eine restlose Entfettung ist nicht notwendig). Den restlichen Äther läßt man an der Luft verdampfen. Wenn kein Äthergeruch mehr wahrzunehmen ist, wird die Masse in eine Petrischale gefüllt, etwas angefeuchtet, verschlossen und 30 Minuten im Brutschrank auf 110° C erhitzt. Zur Sicherung einer ausreichenden Luftfeuchtigkeit wird außerdem eine Schale Wasser in den Brutschrank gestellt. Es ist allerdings dabei nicht zu vermeiden, daß sich ein geringer Teil des verleihten Kollagens verflüssigt und dann die isolierten Fleischteilchen mit einem dünnen Film überzieht. Um diese im mikroskopischen Bild störende Erscheinung zu beseitigen, werden die heißen Proben in einem Faltenfilter mit etwa 50° C warmem Wasser rasch gewaschen und sofort mit kaltem Wasser nachgespült. Dadurch werden die Fleischteilchen von den Gelatinefilmen befreit, ohne daß dabei beachtliche Kollagenmengen ausgeschwemmt werden. Nach Prändl (40) hat die Beseitigung der Gelatinefilme auf das Kollagenvolumen praktisch keinen Einfluß. Die "Verringerung" komme außerdem dem Hersteller zugute, so daß

sich daraus keine ungerechtfertigte Beanstandung ergeben könne.

Nachdem die Masse an der Luft noch etwas getrocknet ist, wird die gesamte Wurstmasse auf dem Mikrotom bei 40 μ Schnittdicke zerkleinert. Da die Wurstmasse sehr bröckelig ist, brechen beim Schneiden leicht größere Stückchen heraus. Es wurde daher um den Mikrotomtisch ein Blechstreifen gelegt, der ihn um 5 - 6 mm überragt. Dazu ist ein sogenannter Schlauchbinder, wie er in der Kraftfahrzeugindustrie gebräuchlich ist, besonders geeignet. Der so auf dem Mikrotomtisch entstandene Becher wird mit dem Untersuchungsgut gefüllt und dieses (mit einem 200 g-Gewicht) zusammengepreßt gefroren. Wenn die Masse durchgefroren ist, wird der Blechstreifen entfernt und das Untersuchungsgut vollständig in 40 μ dicke Scheiben geschnitten.

Das so zerkleinerte Wurstgut wird in 10 %ige Natriumalginatlösung eingebettet (41). Man verwendet ein etwa erbsengroßes Stück Alginatlösung für einen Kaffeelöffel Wurstmasse. Dabei ist zu beachten, daß möglichst kühl gearbeitet wird, was durch vorsichtiges, wiederholtes Abkühlen der Schale am Gefrier-Mikrotom erreicht werden kann. Ist das Material gut durchgemischt, so werden kleine Blöckchen von ca. 2,5 x 1,5 x 0,5 mm Größe geformt, in 10 %iger Calciumchloridlösung 24 Stunden gehärtet und dann weitere 24 Stunden in Müller'scher Flüssigkeit fixiert. Nach etwa halbstündigem Wässern können die Schnitte angefertigt werden.

Die am Stück entnommenen Proben werden je nach Fettgehalt 10 - 12 Stunden in der "Soxhlet-Apparatur" entfettet, in der feuchten Kammer erhitzt, dann ca. 24 Stunden in "Müller'scher Flüssigkeit" fixiert und vor dem Schneiden ebenfalls 1/2 Stunde gewässert.

Es werden sowohl von den homogenisierten Proben als auch von den Proben am Stück je 10 Schnitte angefertigt. Die etwa 10 μ dicken Schnitte müssen bis zur Färbung mindestens 10 Stunden bei Zimmertemperatur an der Luft getrocknet werden. Die Schnitte werden von verschiedenen Stellen der Blöcke angefertigt.

Die lufttrockenen Schnitte werden 3 Minuten in Anilinblau-Orange-Eisessiglösung (0,5 g wasserlösliches Anilinblau, 2,0 g Orange-G, 100,0 ml Aqua dest., 5,0 ml Eisessig, kurz aufkochen, nach dem Erkalten filtrieren) gefärbt, kurz in Aqua dest. ausgewaschen und wie üblich weiterbehandelt (Alkoholreihe, Xylol, Kanadabalsam).

Bei dieser Färbung werden kollagene Substanzen blau, Muskeleiweiß gelb gefärbt.

Das Auswerten der Schnitte erfolgte mit dem "Pointcounter" (Beschreibung und

Handhabung siehe S. 6, siehe auch Prändl (40)).

c) Es wurden insgesamt 35 gewerblich hergestellte Rohwürste mit feinem oder mittlerem Körnungsgrad auf ihren Kollagengehalt untersucht. Die Rezepturen dieser Würste waren bekannt und konnten so zu den histometrisch gefundenen Kollagenvolumenanteilen in Beziehung gesetzt werden. Nach den Rezepturen wurden die Würste in 3 Qualitätsstufen eingeteilt:

1. Spitzenqualität, die aus entsehtem Muskelfleisch und gut entschwartetem Speck bestand,
2. mittlere Qualität, die aus "Fleisch wie gewachsen" und entschwartetem Speck hergestellt war und
3. einfache Qualität, die entweder sehnen- und bindegewebsreiches Fleisch (Knochenputz) enthielt, oder die zum Fleisch wie gewachsen einen Zusatz von kollagenen Substanzen (Sehnen, Schwarten und dgl.) bis zu 10 % erhielten.

Die an Hand der Rezepturen von uns vorgenommene Klassifizierung stimmte jeweils mit der von den Herstellern angegebenen Qualitätsstufen überein.

Da bei den streichfähigen Rohwürsten eine Vorzerkleinerung nicht erforderlich war, und auch zu erwarten war, daß bei diesen die Qualitätsunterschiede weniger im Kollagengehalt zum Ausdruck kommen, wurden sie gesondert behandelt.

Von jeder Wurstprobe wurden 20 Schnitte ausgewertet, und zwar je 10 vom nicht zerkleinerten und vom vorzerkleinerten Untersuchungsgut. Von den streichfähigen Würsten wurden je 10 Schnitte untersucht. Daneben wurden die Rohwürste auch chemisch auf ihren Gehalt an kollagener Substanz untersucht.

Der Rohproteingehalt der Rohwürste wurde in der üblichen Weise nach Kjeldahl bestimmt. Die Oxyprolinbestimmung wurde nach Neumann und Logan (39) durchgeführt und daraus mit dem von Möhler und Antonacopoulos (1, 38) vorgeschlagenen Faktor 8 die in der Probe vorhandene "Bindegewebsweißmenge" berechnet. Das Glucosamin wurde nach saurer Hydrolyse der Wurstmasse mit Ionenaustauschern abgetrennt und spektralphotometrisch bestimmt (43). Ferner wurde das Kollagen auch noch durch Verdauung mit Pepsin nach Grau und Hamm (15, 16) ermittelt.

Die Oxyprolin- und die Glucosaminbestimmung sowie die Verdauung mit Pepsin wurden von Fräulein Rolle (43) durchgeführt.

Die Ergebnisse, von denen auf den Bindegewebsgehalt der Rohwürste geschlossen wird, sind in den Tabellen 1 - 3 zusammengestellt.

Tabelle 1: Histometrische und chemische Analysendaten für den Kollagen

1	2	3	4	5	6	
Lfd. Nr.	Quali- tät	histometrische Untersuchungen				
		vorzerkleinert		nicht vorzerkleinert		
		Kollagen- Vol. -% +)	Varianz	Kollagen- Vol. -% +)	Varianz	
1	I	18	4,86	12	4,64	
2		16	4,93	13	2,34	
3		16	4,53	18	2,93	
4		14	1,23	12	1,84	
5		23	9,64	20	3,21	
6		17	16,11	-	-	
7		11	10,04	-	-	
8		15	1,16	9	1,84	
9		18	2,71	12	1,39	
Mittelwerte		16	6,14	14	2,60	
10	II	28	2,19	30	5,17	
11		23	13,04	23	7,68	
12		24	3,77	21	2,22	
13		19	10,62	17	9,38	
14		18	5,25	13	12,00	
15		27	11,34	27	9,29	
16		31	2,90	24	8,40	
17		32	4,82	-	-	
18		30	6,35	-	-	
19		26	3,42	22	1,21	
20		28	13,36	31	3,98	
Mittelwerte		26	7,01	23	6,66	
21	III	52	5,74	49	2,00	
22		51	0,95	42	15,41	
23		50	3,35	50	1,43	
24		49	6,74	-	-	
25		49	4,15	-	-	
26		51	8,32	49	3,95	
27		55	2,43	51	2,61	
Mittelwerte		51	4,52	48	4,43	

+) Mittelwerte von je 10 Schnitten

ttesten Rohwürsten

	8	9	10
chemische Untersuchungen			
	Oxyprolin in % des Rohprotein x 8	Glukosaminzahl (mg/gN)	N-Gehalt des v. Pepsin nicht verdauten Anteils in % des Ges. -N.
	2,9	6,0	-
	4,4	-	10,1
	5,3	-	12,9
	6,3	11,1	15,7
	2,7	8,8	-
	2,5	-	-
	7,8	-	-
	2,1	-	20,5
	2,9	-	21,0
	4,1	8,6	16,0
	8,0	-	27,3
	10,8	-	26,7
	15,6	9,7	31,6
	16,0	8,4	28,2
	12,9	9,5	27,0
	5,9	7,1	-
	7,8	-	-
	15,8	-	-
	7,1	-	-
	3,7	-	24,5
	13,2	-	33,4
	10,6	8,7	28,4
	15,9	10,8	-
	19,2	-	38,8
	17,2	9,4	-
	18,0	-	-
	14,5	-	-
	15,5	-	47,0
	16,4	-	59,0
	16,7	10,1	48,3

Tabelle 2: Histometrische und chemische Analysendaten für den Kollagengehalt von streichfähigen Rohwüsten

1	2	3	4	5	6	7	8
		histometrische Untersuchung von jeweils 10 Schnitten			chemische Untersuchung		
Lfd. Nr.	Qualität	Kollagenvo- lumen in %	Varianz s_i^2 +)	Rohprotein (N x 6, 25) in %	Oxyprolin in % des Rohpro- tein x 8	Glukosamin- zahl (mgN/g	N-Gehalt des von Pepsin nicht ver- dauten Anteils in % des Ges. - N.
1	I	17	0,41	15,0	2,9	-	26,0
2		11	2,74	17,1	3,0	7,6	-
3		15	2,12	12,0	17,5	8,0	29,7
4	II	29	6,60	13,1	8,3	-	31,6
5		33	3,08	13,6	7,2	9,4	-
6		36	6,73	12,6	24,9	10,4	27,1
7		31	4,14	15,6	8,2	-	
8	III	35	3,60	19,3	7,9	10,6	35,5

+) aus den Varianzen s_i^2 ergibt sich als gewogenes
Mittel $s_1^2 = 3,68$

Tabelle 2: Histometrische und chemische Analysendaten für den Kollagengehalt von streichfähigen Rohwürsten

1	2	3	4	5	6	7	8
		histometrische Untersuchung von jeweils 10 Schnitten			chemische Untersuchung		
Lfd. Nr.	Qualität	Kollagenvo- lumen in %	Varianz s_i^2 +)	Rohprotein (N x 6,25) in %	Oxyprolin in % des Rohpro- tein x 8	Glukosamin- zahl (mgN/g)	N-Gehalt des von Pepsin nicht ver- dauten Anteils in % des Ges.-N.
1	I	17	0,41	15,0	2,9	-	26,0
2		11	2,74	17,1	3,0	7,6	-
3		15	2,12	12,0	17,5	8,0	29,7
4	II	29	6,60	13,1	8,3	-	31,6
5		33	3,08	13,6	7,2	9,4	-
6		36	6,73	12,6	24,9	10,4	27,1
7		31	4,14	15,6	8,2	-	
8	III	35	3,60	19,3	7,9	10,6	35,5

+) aus den Varianzen s_i^2 ergibt sich als gewogenes
Mittel $s_I^2 = 3,68$

Tabelle 3: Zuverlässigkeit der verschiedenen Kollagenbestimmungsmethoden, geprüft durch Varianzanalyse der in Tabelle 1 angegebenen Werte

1	2	3	4	5	6
Methode	n_I	s_I^2	n_Z	s_Z^2	F
Kollagenvolumen (zerkleinert)	24	17,4	2	2436,0	140,0
Kollagenvolumen (am Stück)	18	22,8	2	1798,0	78,9
Oxyprolin	24	9,9	2	314,5	31,8
Glukosamin	6	3,1	2	1,9	<1
Verdauung	12	29,4	2	973,8	33,1

s_I^2 = Varianz der Probenwerte innerhalb der Qualitätsstufen

s_Z^2 = Varianz der Probenwerte zwischen den Qualitätsstufen

n = Freiheitsgrade

F = Varianzquotient s_Z^2 / s_I^2

II. Besprechung der Ergebnisse

Bei den nicht streichfähigen Rohwürsten erster Qualität, von denen die Proben nicht vorzerkleinert wurden, schwankten die Mittelwerte je Probe zwischen 9 und 20 Vol. -%, während bei den vorzerkleinerten Proben die Werte zwischen 11 und 23 Vol. -% lagen.

Die unzerkleinerten Proben von den mittleren Qualitäten wiesen Werte zwischen 13 und 31 Vol.-% auf, während nach Vorzerkleinerung und intensiver Durchmischung Werte von 18 bis 32 Vol. -% festgestellt wurden. Bei den einfachen Qua-

litäten lagen die Werte für das Kollagenvolumen bei den unzerkleinerten Proben zwischen 42 und 51 Vol. -% und für die gleichen Proben nach Vorzerkleinerung zwischen 49 und 55 Vol. -%.

Daraus ist zu ersehen, daß nach Vorzerkleinerung meist etwas höhere Volumenwerte für das Kollagen gemessen werden als bei den unzerkleinerten Proben. Die Mittelwerte aus allen Messungen je Qualitätsstufe liegen bei vorzerkleinertem Material stets um 2-3 Vol. -% über denen der Proben, die unzerkleinert blieben. Die Ursache für diese Erscheinung ist nicht bekannt. Wahrscheinlich wird bei den am Stück erhitzten Proben das kollagene Gewebe nicht so vollständig verleimt wie das beim gewolfen Untersuchungsgut der Fall ist, bei dem auch das Fett weitgehender extrahiert ist. Demnach dürften die Werte bei den vorzerkleinerten Proben den tatsächlichen Gehalt an kollagenen Geweben näherkommen. Dafür spricht auch etwa die im Mittel gute Übereinstimmung mit den Werten aus der Kollagenbestimmung durch Verdauung (Tab. 1, Sp. 10).

III. Diskussion

Die durchgeführten Untersuchungen von Rohwürsten hatten in erster Linie den Zweck, Grenzwerte für die histometrische Qualitätsbeurteilung hinsichtlich des Kollagengehaltes zu ermitteln. Daneben wurde der Einfluß unterschiedlicher Vorbehandlung des Untersuchungsgutes (zerkleinert, am Stück) auf die histometrische Auswertung untersucht. Es war dabei die Hypothese zu prüfen, daß durch eine intensive Zerkleinerung und Durchmischung des Untersuchungsgutes im Mittel eine größere Zuverlässigkeit des aus mehreren Schnitten erhaltenen Ergebnisses erzielt werde als bei Untersuchung von nicht vorzerkleinertem Material. Auch war zu prüfen, ob durch die Vorbehandlung das Kollagenvolumen verändert wird. Zum Vergleich wurden einige chemische Kollagen-nachweismethoden in die Untersuchungen mit einbezogen.

Die mittleren Kollagenvolumina in den einzelnen Qualitätsstufen sind bei Vorzerkleinerung stets etwas höher als diejenigen von unzerkleinertem Material.

Die mittleren Varianzen ("Mittelwerte" aus den jeweiligen Spalten 4 und 6) sind entgegen der Erwartung bei der Untersuchung des unzerkleinerten Wurstgutes sogar etwas geringer als bei vorzerkleinertem Material. Die Unterschiede sind allerdings zufällig. Wenn in den untersuchten Fällen durch die Vorzerkleinerung die Zuverlässigkeit nicht zu steigern war, so besagt das allerdings nur, daß die Verteilung des Kollagens in diesen Proben schon so gut war, daß

sie durch die Vorbehandlung nicht mehr verbessert werden konnte. Es ist aber möglich, daß zwar innerhalb der aus dem Wurstgut herausgeschnittenen Blöcke die Verteilung des Kollagens relativ gleichmäßig, hinsichtlich der Gesamtmasse aber ein weniger guter Querschnitt vorgelegen hat als bei vorhergehender guter Durchmischung des gesamten Untersuchungsgutes.

In Tabelle 3 sind die Streuungen der Kollagenwerte bzw. der für den Kollagengehalt kennzeichnenden Größen zerlegt nach Streuungen innerhalb der Qualitätsstufen und denjenigen zwischen den Qualitäten aufgeführt. Je kleiner die Streuung innerhalb der Qualitätsstufen und je größer sie zwischen den Qualitätsstufen ist, um so größer ist die Sicherheit, mit der die Qualität hinsichtlich des Kollagengehaltes zu bestimmen ist. Die Sicherheit der Qualitätsunterscheidung kommt in dem Varianzquotienten $F = s_Z^2 / s_I^2$ zum Ausdruck. Für die Kollagenvolumenbestimmung ist sowohl nach Vorzerkleinerung als auch bei Untersuchung unzerkleinerter Proben im Mittel eine sichere Unterscheidung der Qualitäten möglich gewesen ($F >$ als Schranke für Unwesentlichkeit der Unterschiede).

Durch den fast doppelt so großen Varianzquotienten bei homogenisiertem Material gegenüber unzerkleinertem ist aber eine etwas größere Zuverlässigkeit der Qualitätsbestimmung nach der Vorzerkleinerung angedeutet.

Die Oxyprolinmethode hat ebenso wie die Verdauungsmethode im allgemeinen die Qualität der Rohwürste hinsichtlich ihres Kollagengehaltes bestimmen lassen. Die Unterscheidung zwischen mittlerer und einfacher Qualität ist an Hand der Oxyprolinmethode nicht völlig gesichert.

Die Verdauungsmethode hat zwar in den vorliegenden Untersuchungen gute Ergebnisse erzielen lassen, bei Verarbeitung von gekochtem kollagenem Material versagt sie jedoch.

Der Glucosamingehalt hat sich nicht als eine kennzeichnende Größe für den Kollagengehalt von Rohwürsten erwiesen. Bezüglich der möglichen Einflüsse, die als Ursache dafür in Betracht kommen, sei auf die Arbeit von Rolle (43) verwiesen.

Die Ergebnisse aus den Untersuchungen von 8 Mettwürsten verschiedener Qualitäten sind in Tabelle 2 wiedergegeben. Die geringe mittlere Varianz der histometrischen Meßwerte (innerhalb der Proben) von 3,68 zeigt, daß das Kollagen in einer sehr guten Verteilung vorgelegen hat.

Es handelt sich bei diesen Würsten ausschließlich um feine Mettwürste, also um fein zerkleinertes Material. Zwischen den Kollagenvolumina der I. und

der II. Qualität war auch hierbei gut zu unterscheiden.

Die durchgeführten Untersuchungen an gewerbeüblich hergestellten Rohwürsten haben gezeigt, daß durch eine besondere Vorbehandlung des Untersuchungsgutes die Anilinblau-Orange-Färbung auch bei Rohwürsten eine für die quantitative Kollagenbestimmung gut geeignete Färbung darstellt. Die Erhitzung des Untersuchungsgutes in einer feuchten Kammer führt zwar zu einer Quellung der kollagenen Gewebe, durch die besondere Versuchsanordnung konnte aber diese Volumenänderung für gleiche Kollagengehalte praktisch konstant gehalten werden. Dadurch sind die Kollagenvolumenanteile den enthaltenen Kollagenmengen proportional. Die mathematisch-statistische Auswertung der Ergebnisse hat ergeben, daß für die Beurteilung der Rohwurstqualität hinsichtlich des Gehaltes an kollagenem Gewebe das Kollagenvolumen eine ausreichend gute Prüfgröße darstellt. Mit den gleichzeitig angewandten chemischen Methoden waren die Qualitäten von Rohwürsten weniger gut zu differenzieren als durch die histometrische Auswertung.

Auf Grund der vorliegenden Untersuchungsergebnisse werden folgende Grenzwerte für den Kollagengehalt von Rohwürsten vorgeschlagen:

I. Qualität:	25 Vol. -%
II. Qualität:	35 Vol. -%
III. Qualität:	55 Vol. -%

D. ZUSAMMENFASSUNG

1. An Hand der Literatur wird die Entwicklung der quantitativen Auswertung und ihre Einführung in die Wursthistologie beschrieben.
2. Für Rohwürste wird eine Aufbereitung des Materials beschrieben, welche bei der histologischen Untersuchung auch die Anwendung der Azanfärbung nach Heidenhain in der Modifikation nach Kotter ermöglicht und eine gleichmäßige Verteilung der Gewebekomponenten sichert.
3. Schnitte von 35 Rohwürsten wurden mit dem von Prändl entwickelten Pointcounter untersucht, die Ergebnisse mathematisch-statistisch ausgewertet und den Ergebnissen aus den gebräuchlichen chemischen Untersuchungsmethoden gegenübergestellt.
4. Für den Kollagenvolumenanteil in Rohwürsten werden als Grenzwerte für die I. Qualität 25 Vol. -%, für die II. Qualität 35 Vol. -% und für die III. Qualität 55 Vol. -% vorgeschlagen.

E. LITERATURVERZEICHNIS

1. Antonacopoulos, H.: Vorschläge zur quantitativen Bestimmung
des Bindegewebes in Fleisch und seinen Zu-
bereitungen.
Diss. rer. nat. München 1957
2. Attardi, G.: Über neue, rasch auszuführende Verfahren
für Zellgrößenmessungen.
Acta Anat. 18 (1953), 177
3. Beller, K.-A.: Physikalisch-chemische Untersuchungen
zur Anwendung der Anilinblau-Orange-Eis-
essig-Färbung für die Darstellung von
Kollagen.
Diss. med. vet. München 1960
4. Bodrossy, C.: Versuche zur Feststellung der quantitativen
histologischen Zusammensetzung von Würsten.
Zschr. Fleisch- u. Milchhyg. 53 (1942), 51
5. Chalkley, H. W.: Method for the Quantitative Morphologic
Analysis of Tissues.
J. Nat. Canc. Inst. 4 (1943/44), 47
6. Chayes, F.: A simple point-Counter for thinsection
analysis.
The American Mineralogist 34 (1949), 1
7. Chayes, F. and
H. W. Fairbairn: A test of the precision of thinsection analysis
by point counter.
The American Mineralogist 36 (1951), 704
8. Delesse, A.: Procédé mécanique pour déterminer la
composition des roches.
Comtes Rendus 25 (1847), 544;
Ann. d. Mines 13 (1848), 379
9. Drescher-Kaden, F. K.: Über eine Integrationseinrichtung mit
elektrischer Zählung.
Fortschr. Mineral. 20 (1936), 37

10. Eränkő, O.: Quantitative Methods in Histology and Microscopy Histochemistry.
S. Karger, Basel und New York 1955
11. Gervasini, C.: L'Esame istologico degli insaccati: Nota III. Metodi istologici per la ricerca quantitativa dei componenti l'impasto di un insaccato. Atti Soc. Ital. Sci. Vet. 13 (1959)
12. Glagoleff, A. A.: On the geometrical methods of quantitative mineralogic analysis of rocks. Trans. Inst. Econ. Min., Moscow 59 (1933)
13. Glagoleff, A. A.: Quantitative Analysis ... with the Microscope ... by the "Point". Method. Engineering and Mining J. 135 (1934) 399
14. Glagoleff, A. A.: Vorrichtung für Mikroskope zum Bestimmen der relativen Mengenverhältnisse von Gesteinsteilen einer zu untersuchenden Schicht. Patentschrift Nr. 642 598 (1937) und Nr. 671 522 (1939)
15. Grau, R.: Bestimmung von Bindegewebe in Frischfleisch und Rohwurst. Mitt. GDCh, Fachgr. Lebensmittelchemie 1955, 38
16. Grau, R. und R. Hamm: Die Bestimmung des Bindegewebes in rohem Fleisch durch enzymatische Hydrolyse. Zeitschr. f. Lebensmittelunters. u. -Forsch. 93 (1951), 201; siehe auch Fleischwirtschaft 3 (1951), 161
17. Haug, H.: Die Treffermethode, ein Verfahren zur quantitativen Analyse im histologischen Schnitt. Zschr. Anat. und Entw. -Gesch. 118 (1955), 302
18. Hennig, A.: Das Problem der Kernmessung. Eine Zusammenfassung und Erweiterung der mikroskopischen Meßtechnik. Mikroskopie 12 (1957), 174

19. Hennig, A.: Kritische Betrachtungen zur Volumen- und Oberflächenmessung in der Mikroskopie. Zeiss-Werkzeitschrift 6 (1958), 78
20. Hirschwald, J.: Ausmessung des Mengenverhältnisses der einzelnen Mineralbestandteile. Körnige Gesteine in Dünnschliffen. Handbuch der bautechnischen Gesteinsprüfung. Verlag Gebr. Borntraeger, Berlin 1912, S. 163-172
21. Hirschwald, J.: Über ein neues Mikroskopmodell und ein "Planimeter-Okular" zur Gesteinsanalyse. Zentralblatt für Mineralogie, Geologie und Palaeont. Stuttgart 1904, S. 626
22. Johannsen, A.: A Planimeter Method for the Determination of the Percentage Compositions of Rocks. J. of Geol. 27 (1919), 276
23. Kersch, A.: Zur quantitativen Bestimmung kollagener Substanzen in Brühwürsten mittels der histologischen Untersuchungstechnik. Diss. med. vet. München 1956
24. Kotter, L.: Neue Wege bei der histologischen Wurstuntersuchung, Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 68 (1955), 68
25. Kotter, L.: Zum Nachweis kollagener Substanzen in Wurstwaren, Wiener Tierärztl. Mon. Schr. 44 (1957), 705
26. Kotter, L. und E. Degenkolb: Zur Beurteilung und zum Nachweis kollagener Substanzen (Schwarten, Sehnen usw.). Fleischwirtschaft 8 (1956), 203
27. Kotter, L., E. Degenkolb und E. Elfert: Zum Nachweis kollagener Substanzen bei der histologischen Wurstuntersuchung. Tierärztl. Umschau 11 (1956), 140; Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 69 (1956), 37; Fleischwirtschaft 7 (1955), 673

28. Kotter, L. und
O. Prändl:
Einfluß der Fleischzerkleinerung auf die Zu-
standsänderung der fibrillären Muskeleiweiß-
körper.
Fleischwirtschaft 8 (1956), 688
29. Kotter, L. und
O. Prändl:
Zur Bestimmung des Kollagenanteils in Wurst-
waren mit dem Integrationstisch.
Zschr. wiss. Mikrosk. u. mikrosk. Technik
64 (1959), 257
30. Kotter, L., O. Prändl
und C. Gervasini:
Experimentelle Grundlagen für die Beurtei-
lung des Kollagenvolumens von Brühwürsten.
Arch. Lebensmittelhyg. 9 (1958), 243
31. Kelch, F. und
K. Gerigk:
Die Eignung des Integrationsokulars I der Fa.
Zeiss, Oberkochen, für die quantitative
Analyse von Rohwürsten.
Fleischwirtschaft 11 (1959), 1021
32. Kelch, F. und
K. Gerigk:
Vergleichende quantitative histologische Un-
tersuchungen an Rohwürsten mit dem Integra-
tionstisch der Fa. Leitz, Wetzlar, und dem
Integrationsokular der Fa. Zeiss, Oberkochen.
Fleischwirtschaft 12 (1960), 385
33. Leinati, L. und
C. Scolari:
L'accertamento mediante L'esame istologico
dei componenti L'impasto degli insaccati mi-
sti stufati denominati mortadelle.
Atti Soc. Ital. Sci. Vet. 4 (1950), 635
34. Lerche, M.:
Zur histologischen Untersuchung von Fleisch-
und Wurstwaren.
Arch. Lebensmittelhyg. 9 (1958), 6
35. Linke, H.:
Ein Beitrag zur quantitativen Auswertung in
der Wursthistologie.
Arch. Lebensmittelhyg. 10 (1959), 31
36. Linke, H.:
Die quantitative Auswertung histotaxierter
Schnittpräparate an Hand der Qualitätsricht-
linien.
Die Fleischwirtschaft 12 (1960), 817

37. Lorenz, E.: Vergleichende Betrachtungen der Einbettungsmethoden von Leberwurst zur histologischen Untersuchung nach Breusch und Escher. Diss. med. vet. Berlin 1945
38. Möhler, K. und N. Antonacopoulos: Chemische Bestimmungen von Bindegewebe in Fleisch und seinen Zubereitungen. Zschr. f. Lebensmittelunters. u. Forsch. 106 (1957), 425
39. Neumann, R. E. und M. A. Logan: The Determination of Hydroxyproline. J. Biol. Chem. 184 (1950), 299
40. Prändl, O.: Die histologische Analyse von Gewebe- und Organgemengen. Habilitationsschrift München 1960
41. Prändl, O.: Über die Einbettung von Wurstproben für die histologische Untersuchung. Arch. Lebensmittelhyg. 10 (1959), 62
42. Preuß, E. W.: Prozentuale Bestimmung von Leber in Leberwurst mit dem Integrat. Okular der Fa. Leitz. Vet. med. Diss. Gießen 1955
43. Rolle, B.: Zur Glucosaminbestimmung in Fleisch- und Wurstwaren. Demnächst bei der Naturwiss. Fakultät der Univ. München zur Vorlage kommende Dissertation.
44. Rosiwal, A.: Über geometrische Gesteinsanalysen. Ein einfacher Weg zur ziffernmäßigen Feststellung des Quantitätsverhältnisses der Mineralbestandteile gemengter Gesteine. Verhandl. der k. u. k. geolog. Reichsanstalt Wien, 1898, 143
45. Schäfer, W.: zit. nach Scheumann (46)
46. Scheumann, K. H.: Zwei Hilfsapparaturen für das petrographische Mikroskop. II. Integrationstisch für das Shand'sche Analysenverfahren. Mineral. und Petrogr. Mitt. NF. 41 (1931), 180

47. Schuchardt, E.: Die Gewebsanalyse mit dem Integrations-
okular.
Zschr. f. wiss. Mikroskopie 62 (1954/55), 9
48. Shand, S. J.: A recording micrometer for geometrical
rock analysis.
J. Geol. 24 (1916), 394
49. Sinell, H. J.: Histometrische Untersuchungen mit dem
"Leitz"Integrationstisch zur Bestimmung des
Kollagenanteils in zerkleinertem Fleisch.
Arch. Lebensmittelhyg. 11 (1960), 147
50. Sollas, W. J.: Contributions to a Knowledge of the Granites
of Leinster.
Trans. Roy. Irish Acad., Dublin, 29 (1887-92),
471
51. Wentworth, K. C.: An improved recording micrometer for rock
analysis.
J. Geol. 31 (1923), 228

Am Schlusse meiner Arbeit erlaube ich mir,
Herrn Professor Dr. L. Kotter für die Über-
lassung des Themas und die freundlichen Bera-
tungen meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Herrn Priv. Doz. Dr. O. Prändl bin ich für die
zahlreichen Anregungen und die jederzeit gewährte
Unterstützung zu besonderem Dank verpflichtet.

L e b e n s l a u f

Am 5. Juli 1928 wurde ich, Andreas Leonhard Walfried Eberlein als Sohn des Studienprofessors Dr. David Eberlein und seiner Ehefrau Margarete, geb. Schwemmer, in Nürnberg geboren.

Nach der Volksschule, 1935 bis 1939, trat ich in das Melanchthon-Gymnasium Nürnberg ein, das ich bis zur Erlangung der Reife im Sommer 1948 besuchte.

Vom Januar 1944 bis Februar 1945 war der Schulbesuch durch einen Luftwaffenhelferdienst in Nürnberg und in Oberschlesien unterbrochen.

Im Sommersemester 1950 konnte ich nach Ableistung einer Baudienstzeit vom Januar 1949 bis März 1950 an der Chirurgischen Tierklinik der Universität München das Studium an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München beginnen. Dort schloß ich auch meine Ausbildung mit der Tierärztlichen Prüfung im Sommer 1955 ab. Nach der 6-monatigen Praktikantenzeit in der tierärztlichen Praxis erhielt ich im Januar 1956 die Approbation.

Seit Frühjahr 1956 bin ich als Fleischbeschau-Tierarzt am Städt. Schlacht- und Viehhof Nürnberg tätig.

Von Juni 1959 bis Dezember 1960 beschäftigte ich mich in meiner Freizeit mit der vorliegenden Dissertation.

